Über die Anwendung papierchromatographischer Verfahren in der Lebensmittelanalytik.

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
zu
Frankfurt/Main

Kennziffer:
D 30

vorgelegt von

Dieter P f e i l
Saarbrücken

1954

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Für die papierchromatographische Technik, die einleitend eingehend beschrieben wird, werden einige Verbesserungen angegeben:

Eine neue Kombination für eine Verteilungsflüssigkeit sowie eine neue Sprühmethode, die es erlaubt, reduzierende und nichtreduzierende Zucker auf dem gleichen Chromatogramm sichtbar zu machen, werden beschrieben. Das Herauslösen chromatographisch getrennter Substanzen aus dem Papier nach C.E. D e n t konnte erheblich beschleunigt werden.

Anhand mehrerer Beispiele aus dem Zuckergebiet werden die Vorteile der qualitativen Papierchromatographie für die Lebensmittelanalyse herausgestellt. Mit ihrer Hilfe lassen sich in einem Arbeitsgang Einblicke in die qualitative Zusammensetzung der Zucker gewinnen, die auf andere Weise nicht zu erhalten, und die für das weitere Vorgehen mit Hilfe der klassischen quantitativen Methoden sehr wertvoll sind. Manche Entscheidungen lassen sich - wie einige Beispiele zeigen - überhaupt nur auf papierchromatographischem Wege treffen.

Mit dem Ziele, geeignete quantitative papierchromatographische Zuckerbestimmungsmethoden für lebensmittelanalytische Zwecke zu finden, wurde nach kolorimetrischen Methoden gesucht , die auf der Perjodatoxydation und anschließender Bestimmung des gebildeten Formaldehydes unmittelbar in der Reaktionslösung beruhen. Diese Bemühungen scheiterten an der Schwierigkeit der Beseitigung des Perjodatüberschusses. Dagegen lieferte ein anderes, auf die Bleitetraoxydation gegründetes Verfahren , bei dem der gebildete Formaldehyd mit Chromotropsäure bestimmt wurde, einwandfreie Ergebnisse; das Verfahren wurde jedoch nur an Glukose überprüft.

Als besser geeignet und in der Durchführung einfacher erwies sich die Zuckerbestimmung mit Hilfe von Anthron-Schwefelsäure. Mit dieser Methode lassen sich noch 5 γ Glukose oder andere Zucker mit Sicherheit nachweisen.

Die optimalen Bedingungen der Farbreaktion sowie die Beständigkeit der erhaltenen Färbungen wurden eingehend untersucht. Es konnte gezeigt werden,daß man bei Kohlenhydraten, die aus den gleichen Bausteinen und nach dem gleichen Verknüpfungsprinzip aufgebaut sind (z.B.Glukose, Maltose, Dextrine) mit einer einzigen Eichkurve auskommen kann, wenn man die Eichkurve auf den betreffenden Baustein bezieht.

Mit dieser Methode war eine papierchromatographische Bestimmung auch der Zucker (z.B. Isomaltose und Maltotriose) komplizierterer Gemische (z.B. Stärkeabbauprodukte, wie Malzextrakte, Maltosepräparate, Maltosesirupe, Stärkesirupe u.a.) möglich, die als reine Substanzen zur Aufstellung der Eichkurven nicht zur Verfügung standen. In einigen dieser Handelsprodukte wurde papierchromatographisch die Zusammensetzung der Zucker ermittelt, wobei folgende Komponenten für sich bestimmt wurden : Glukose, Maltose, Isomaltose, Maltotriose und Dextrine. Unter Dextrinen sind hierbei die Kohlenhydrate von Maltotetraose an aufwärts zu verstehen.Dabei ist zum ersten Mal eine ins Einzelne gehende Analyse solcher Zuckergemische vorgenommen worden.

Gleichzeitig wurden in diesen Erzeugnissen die Zucker nach den bisher üblichen Methoden erfasst. Der Vergleich der so erhaltenen Werte mit den auf papierchromatographischem Wege gewonnenen zeigt deutlich die Unzulänglichkeit der bisher üblichen Methoden. Die Gegenüberstellung dieser verschiedenen Werte gewährt interessante Einblicke in das gegenseitige Verhältnis der in diesen Präparaten vorliegenden Zucker.Zwischen den einzelnen Produkten ergeben sich nach der papierchromatographischen quantitativen Analyse erheblichere Unterschiede als nach den bisherigen Methoden. Diese Unterschiede hängen mit der Art der technologischen Bearbeitung zusammen und bieten neue Möglichkeiten für die Einordnung von Erzeugnissen unbekannter Herstellungsart. Solche Möglichkeiten werden diskutiert.

Papierchromatographisch wurde der Endpunkt der Hydrolyse von Nährhefe mit Säure festgestellt.

Die für die lebensmittelrechtliche Beurteilung bestimmter Erzeugnisse wichtige Frage, ob ein Zusatz an Würze oder an reinem Natriumglutamat bzw. Glutaminsäure stattgefunden hat, wurde ebenfalls papierchromatographisch angegangen. Als quantitative Methode zur Bestimmung von Aminosäuren wurde dabei das Verfahren von F.G. F i s c h e r und H. D ö r f e l benutzt, dessen Anwendung auf einen Bereich bis 150 γ ausgedehnt wurde. Es konnte gezeigt werden, dass das Verhältnis der Glutaminsäure zu den Aminosäuren mit höherem R_f-Wert in Würzen ein ziemlich konstantes ist. Jede Überschreitung dieses Verhältnisses deutet auf einen Zusatz von reinem Glutamat bzw. Glutaminsäure hin. Auf Grund einer an verschiedenen Würzen des Handels gewonnenen Relation ist damit eine Berechnung solcher Zusätze möglich. Nach Untersuchungen an Modellmischungen arbeitet dieses Verfahren mit befriedigender Genauigkeit, es ist mit einfachen Geräten durchführbar und liefert gut reproduzierbare Werte. Damit ist eine quantitative Bestimmung des Zusatzes von Glutamaten in würzehaltigen Erzeugnissen (kochfertigen Suppen usw.) möglich.

Die bekannte, auf der Reduktion der Pikrinsäure beruhende Bestimmungsmethode für Kreatinin wurde zur quantitativen, papierchromatographischen Methode ausgearbeitet. Mit ihr lässt sich sowohl das Gesamtkreatinin wie auch das Kreatinin neben Kreatin erfassen. Diese Methode ermöglicht eine einwandfreie Abtrennung störender Stoffe. Die Abhängigkeit der Farbentwicklung von Temperatur und Zeit wurde eingehend studiert, die Gültigkeit des Lambert-Beer'schen Gesetzes für den vorgesehenen Konzentrationsbereich überprüft und die Bedingungen für eine quantitative Umwandlung von Kreatin in Kreatinin ermittelt. An einigen kreatininhaltigen Erzeugnissen des Handels (Fleischextrakten) wurde die Überlegenheit dieser neuen Methode gegenüber den bisherigen Verfahren herausgestellt. Zusätze an Kreatinin liessen sich mit einer Genauigkeit von $\pm$ 1 % wiederfinden.

Für den Nachweis von künstlichen Lebensmittelfarbstoffen in Lebensmitteln wurde die Brauchbarkeit des Verfahrens

von H. T h a l e r u.Mitarbeiter bestätigt. Jedoch kann durch Schwierigkeiten beim Herauslösen und bei der Anreicherung der nur in geringer Menge vorliegenden Farbstoffe, besonders bei eiweißreichen Produkten (Teigwaren)der papierchromatographische Nachweis solcher Farbstoffe erheblich gestört werden. Es wird ein Verfahren angegeben, das diese Störungen so vermindert, daß der Nachweis ohne grössere Schwierigkeiten ausgeführt werden kann.

Es wird eine Methode zum qualitativen Nachweis von Cholin und Methionin nebeneinander beschrieben.

Ich, Hans-Dieter P f e i l , wurde am 7. März 1925 in Saarbrücken als zweiter Sohn des Syndikus Dr.jur.Thomas Pfeil und seiner Ehefrau Maria Pfeil, geb. West geboren. Von Ostern 1931 bis Ostern 1935 besuchte ich die Volksschule, von Ostern 1935 bis 1943 die Staatliche Oberschule in Saarbrücken.Nach meiner Einberufung zur Wehrmacht im April 1943 war ich im Osten eingesetzt und geriet im Mai 1945 als Leutnant d.R. in Gefangenschaft , aus der ich im Oktober 1945 entlassen wurde. Von Juni 1946 bis April 1948 war ich Praktikant in der Rosen-Apotheke (Dr.Stahl) Saarbrücken. Am 1. November 1948 begann ich mein Pharmaziestudium an der Université Catholique Lille (Frankreich) und setzte es im Wintersemester 1949 an der Eberhard-Karl-Universität Tübingen fort, wo ich am 26. Oktober 1951 mein Staatsexamen ablegte. Mit Wirkung vom 1. Dezember 1951 erhielt ich die Approbation als Apotheker. Am 15. April 1952 begann ich, nach 3monatiger lebensmittelchemischer Ausbildung am Chemischen Untersuchungsamt für das Saarland (Doz.Dr. Eisenbrand), am Universitätsinstitut für Lebensmittelchemie (Prof.Dr.Dr. Diemair), Frankfurt/Main, die vorliegende Doktorarbeit, die ich Ende Februar 1954 beendete.

1. Referent: Prof. Dr. Dr. W. Diemair
2. Referent: Prof. Dr. Th. Wieland

Tag der mündlichen Prüfung: 24. 5. 1954